

DIALOG(R)File 347:JAPIO

(c) 1999 JPO & JAPIO. All rts. reserv.

03634569

ANTI-THROMBOSTIC MATERIAL AND PRODUCTION THEREOF

PUB. NO.: 03-297469 [JP 3297469 A]

PUBLISHED: December 27, 1991 (19911227)

INVENTOR(s): ONOHARA MASAYUKI
ONISHI TADAYUKI

APPLICANT(s): SUMITOMO BAKELITE CO LTD [000214] (A Japanese Company or
Corporation), JP (Japan)

APPL. NO.: 02-099303 [JP 9099303]

FILED: April 17, 1990 (19900417)

ABSTRACT

PURPOSE: To obtain a heparin gentle-releasable material having extremely simple and highly safe composition in an extremely simple and cheap manner by using such a fact that the gentle releasability of heparin is dominated by three factors such as the particle size and content of heparin particles and the hydrophilic property of matrix polymer.

CONSTITUTION: A heparin aqueous solution having a concentration of more than 5wt.% but lower than 30wt.% is poured into a precipitant having a volume of more than three times but lower than 100 times as large as that of the heparin aqueous solution while being agitated at a speed of higher than 50r.p.m. so as to redeposit heparin, and then a super-centrifuging under acceleration of higher than 4000G but lower than 10000G is performed in order to deposit the heparin. The supernatant thereof is discarded, and an organic solvent having a volume substantially equal to that of the precipitant is poured into the deposited heparin before the latter is dried, so that the heparin is dispersed in such a condition that the heparin is composed of micro-particles having a particle sizes of 0.1 to 30.mu.m. water-insoluble polymer which can be dissolved in the above-mentioned organic solvent is dissolved into a dispersion liquid, and the preparation is made so as to finally obtain 1 to 40wt.% of the heparin

with respect to the total weight of the water-insoluble polymer and the heparin, and then it is finally molded. With this arrangement, it is possible to obtain a material having a relatively high anti-thrombostic ability and produced in a relatively cheap and simple manner.

008926365

WPI Acc No: 1992-053634/ 11-207

Sustained release antithrombogenic material - comprises heparin particles dispersed uniformly in water-insol. high molecular matrix

Patent Assignee: SUMITOMO BAKELITE CO (SUMB)

Number of Countries: 001 Number of Patents: 002

Patent Family:

| Patent No | Kind | Date | Applicat No | Kind | Date | Week |
|-------------|------|----------|-------------|------|----------|----------|
| JP 3297469 | A | 19911227 | JP 9099303 | A | 19900417 | 199207 B |
| JP 95044950 | B2 | 19950517 | JP 9099303 | A | 19900417 | 199524 |

Priority Applications (No Type Date): JP 9099303 A 19900417

Patent Details:

| Patent No | Kind | Lan Pg | Main IPC | Filing Notes |
|-------------|------|--------|-------------|----------------------------|
| JP 95044950 | B2 | 5 | A61L-033/00 | Based on patent JP 3297469 |

Abstract (Basic): JP 3297469 A

Antithrombogenic material consists 5-40 wt.% 0.1-to-30-micron heparin particles dispersed uniformly in water-insol. high molecular matrix and prevents formation of thrombosis on the high molecular surface for 24-150 hr by releasing the heparin gradually at a rate of 0.1-0.001 micro-gram/cm² min. In a new prepn. of the material, a 5-30 wt.% aq. soln. of heparin is poured into precipitating agent of vol. 3-100 times that of the aq. soln., with stirring of the agent at a rate of 50 rpm or higher to re-precipitate heparin. The ppte is centrifuged at rate of 4,000-10,000 G for 10-60 min. After removal of the supernatant and before and precipitated heparin is dried up, an organic solvent of an amt. nearly equal to that of the precipitating agent is poured to disperse heparin in the form of very fine particles. A water-insol. high molecular cpd. soluble in the organic solvent is dissolved in the dispersion to final ratio of 1-40 wt.% heparin to the

total wt. of the high molecular cpd. and heparin. The liq. mixt. prepd. is formed by casting or coated to the surface of a substrate.

USE/ADVANTAGE - The material has a high anti-thrombogenic property. The method is very simple, highly reproducible and inexpensive. (6pp Dwg.No.0/0

Derwent Class: B04; D22; P34

International Patent Class (Additional): A61L-033/00; C08B-037/10

?E PN=JP 6205838

| Ref | Items | Index-term |
|-----|-------|----------------|
| E1 | 1 | PN=JP 62058330 |
| E2 | 1 | PN=JP 62058331 |
| E3 | 1 | *PN=JP 6205838 |
| E4 | 1 | PN=JP 62058382 |
| E5 | 1 | PN=JP 6205839 |
| E6 | 1 | PN=JP 62058412 |
| E7 | 1 | PN=JP 62058414 |
| E8 | 1 | PN=JP 62058416 |
| E9 | 1 | PN=JP 62058417 |
| E10 | 1 | PN=JP 62058418 |
| E11 | 1 | PN=JP 62058419 |
| E12 | 1 | PN=JP 6205842 |

Enter P or PAGE for more

?S E3

S5 1 PN='JP 6205838'

?T5/7

5/7/1

DIALOG(R)File 351:Derwent WPI

(c) 2003 Thomson Derwent. All rts. reserv.

⑫ 公開特許公報(A)

平3-297469

⑤ Int.Cl.⁵A 61 L 33/00
C 08 B 37/10

識別記号

A

庁内整理番号

6971-4C
7624-4C

④3 公開 平成3年(1991)12月27日

審査請求 未請求 請求項の数 2 (全6頁)

④4 発明の名称 抗血栓性材料及びその製造方法

②1 特 願 平2-99303

②2 出 願 平2(1990)4月17日

⑦ 発 明 者 斧 原 正 幸 東京都千代田区内幸町1丁目2番2号 住友ベークライト株式会社内

⑦ 発 明 者 大 西 忠 之 秋田県秋田市土崎港相染町字中島下27-4 住ベメデイカル株式会社内

⑦ 出 願 人 住友ベークライト株式会社 東京都千代田区内幸町1丁目2番2号

明 細 書

1. 発明の名称

抗血栓性材料及びその製造方法

2. 特許請求の範囲

(1) 非水溶性高分子マトリックス中に粒径が0.1～30 μ mのヘパリン粒子が5～40wt%均一に分散されており、37℃において血液と接触することによって、 10^{-1} ～ 10^{-3} μ g/cm² minの速度でヘパリンが徐放され、24～150時間に渡って前記高分子表面での血栓形成を阻止することを特徴とする抗血栓性材料。

(2) 5wt%以上30wt%以下の濃度のヘパリン水溶液を、該水溶液の3倍以上100倍以下の容積の沈殿剤中に、沈殿剤を50rpm以上の速度で攪拌しながら注いでヘパリンを再沈殿させ、4,000G以上10,000G以下の遠心加速度にて10～60分間超遠心してヘパリンを沈殿させ、

次いで、その上清を捨て、沈殿したヘパリンが乾

燥しない内に前記沈殿剤とほぼ等量有機溶剤を注いで、ヘパリンを微粒子状に分散させ、該分散液に前記有機溶剤に溶解可能な非水溶性高分子を溶解させ、最終的に非水溶性高分子とヘパリンとの総重量に対するヘパリンの重量が1乃至40wt%になるように調整し、

最後に、該調整液をキャスト法によって成型し、もしくは、コーティング法によって基材の表面に塗布、乾燥することによって成型することを経とする抗血栓性材料の製造方法。

3. 発明の詳細な説明

(産業上の利用分野)

本発明は、抗血栓性材料及びその製造方法、更に詳しくは、比較的安価で、簡単に製造でき、しかも高い抗血栓性を有する材料及びその製造方法に関するものである。

(従来の技術)

ヘパリンを抗血栓性材料に応用する研究は、フレンド・コーティング法、イオン結合法、共有結

合法に三つの大別される。

ブレンド法、コーティング法は、ヘパリンが化学量論的に消費されることによって、材料表面での血栓形成を阻害するという考えに基づいている。コーティング法は、材料表面にヘパリンを単に塗布したもので、その効果はほとんど持続しない。また、ブレンド法に於いては、ヘパリンを樹脂に直接混練しても均一に分散させることは不可能で、従って、その徐放性を持続させることは極めて困難であった。そこで、ヘパリンをグラファイトに吸着させて、それをシリコンゴム中に分散させたもの(Hufnagel C.A., 他, Ann NY Acad Sci., vol. 146, 262(1968))や、ヘパリンをシリカに吸着させてそれをポリエチレン系樹脂中に分散させたもの(山下ら, Chem. Express, vol 1, NO. 10, 611(1986))、あるいは、ヘパリンをヒドロゲルに包埋し、そのヒドロゲルを樹脂中に分散させたもの(明石ら, 特開平1-232968号公報)などが提案されてきた。しかし、いずれの材料に於いても、ヘパリンを吸着させて蓄積するための担体が必要不可欠で、か

つこの担体の安全性も十分に考慮しなければならないという煩雑さがあった。

一方、基材にヘパリンをイオン結合で結合させ、徐放させる研究も盛んに行われてきた。例えば、基材を成型加工した後に、ヘパリンの溶液に浸漬し、イオン結合により基材中にヘパリンを高濃度に蓄積させたもの(長岡ら, 特開昭55-60461、特開昭57-119756各号公報)がある。この材料は、長期のヘパリン徐放性に優れているといわれている。しかし、製造方法が煩雑で、製造時間がかかること、比較的高温処理のためヘパリンの活性低下などに疑問が残るとともに、コストが高くつくという問題を有している。

(発明が解決しようとする課題)

本発明の目的は、いままできわめて困難と言われてきた、ヘパリンを吸着して蓄積するための担体を全く含まず、ヘパリンとマトリックスポリマーのみからなる、極めて単純で安全性の高い組成のヘパリン徐放性材料を、簡単に安価に提供することにある。

(課題を解決するための手段)

本発明は、非水溶性高分子マトリックス中に粒径が $0.1 \sim 30 \mu\text{m}$ のヘパリン粒子が $5 \sim 40\text{wt}\%$ 分散されており、 37°C で血液と接触することによって、 $10^{-1} \sim 10^{-8} \mu\text{g}/\text{cm}^2 \text{min}$ の速度でヘパリンが徐放され、 $24 \sim 150$ 時間に渡って前記高分子表面での血栓形成を阻止することを特徴とする抗血栓性材料であり、更に、

$5 \text{ wt}\%$ 以上 $30 \text{ wt}\%$ 以下の濃度のヘパリン水溶液を、該水溶液の3倍以上100倍以下の容積の沈殿剤中に、沈殿剤を 50 rpm 以上の速度で攪拌しながら注いでヘパリンを再沈殿させ、 $4,000\text{G}$ 以上 $10,000\text{G}$ 以下の遠心加速度にて $10 \sim 60$ 分間超遠心してヘパリンを沈殿させ、次いで、その上清を捨て、沈殿したヘパリンが乾燥しない内に前記沈殿剤とほぼ等量の有機溶剤を注いで、ヘパリンを $0.1 \mu\text{m}$ 以上 $30 \mu\text{m}$ 以下の微粒子の状態分散させ、該分散液に前記有機溶剤に溶解可能な非水溶性高分子を溶解させ、最終的に非水溶性高分子とヘパリンとの総重量に対するヘパリンの重量が1乃至 $40 \text{ wt}\%$

になるように調整し、最後に、該調整液をキャスト法によって成型するか、または、コーティング法によって基材の表面に塗布した後乾燥することによって成型することを特徴とする抗血栓性材料の製造方法である。

本発明者らは、分散させるヘパリン粒子の粒径とその含有量、及びマトリックス高分子の親水性の三つの因子によって、ヘパリンの徐放性が支配されることを見出し、さらに検討を進めて本発明を完成させるに至った。以下、本発明につきさらに詳細に説明する。

本発明に於いてマトリックス高分子中に分散させるヘパリンの粒子の大きさは、 $0.1 \sim 30 \mu\text{m}$ 、好ましくは $0.5 \sim 5 \mu\text{m}$ が適している。 $0.1 \mu\text{m}$ 以下では、粒子の自然凝集が起こり、分散剤などの化学物質の添加が必要になり、カテーテルの様な医療用途に使用した場合には安全性に問題が生じる。また、 $30 \mu\text{m}$ を越えると、以下のような問題が生じてくる。まず、材料表面の起伏が大きくなり、血液レオロジー的に血栓を誘発し易くなる。

また、同一の添加量では分散しているヘパリン粒子間の距離が大きくなり過ぎ、マトリックス中のヘパリンの拡散が遅延し、材料表面ではヘパリン密度が小さくなり過ぎ、初期の抗血栓性が低下する。

本発明に於ける非水溶性高分子は、非水溶性であること及び有機溶剤溶解性であること以外は特に限定しないが、その表面の接触角が30〜80度程度のものがヘパリンの徐放性能からみて好ましい。例えば、ポリウレタン、特にポリエーテルウレタン、軟質塩化ビニル樹脂、塩化ビニル-酢酸ビニル共重合体、塩化ビニル-エチレン-酢酸ビニル三元共重合体、エチレン-酢酸ビニル共重合体等が適している。

次に、本発明に於ける抗血栓性材料の製造方法について詳細に述べる。

ヘパリンは、試薬として市販されているものも利用できるが、できれば臨床上汎用されているものが好ましい。最近、副作用が少ないことで話題になっている、低分子量ヘパリン(Fragmin®, Kabi

Vitrum社製など)も目的に応じて使用することが可能である。また、その形態は、粉末または固形物が好ましく、水溶液に調製されているものは改めて必要な濃度に調製する手間がかかるため好ましくない。ヘパリンを溶解させる水は、特に限定はしないが、蒸留水、特に注射用蒸留水、純水、超純水等が利用できる。

ヘパリンの沈殿剤は特に限定しないが、メタノール、プロパノール、アセトン、ジメチルアセトアミド等が好ましい。エタノール、エチレングリコールなどは、水との混合比によってはヘパリンを溶解させるため、ヘパリンの沈殿剤としては適切ではない。

最初に調製するヘパリンの水溶液の濃度は、5〜30wt%が好ましい。5wt%に満たない場合は、再沈殿時に低分子量のヘパリンの回収率が低下し、30wt%を越えると、再沈殿の効率が低下しヘパリン粒子が大きくなりすぎてしまう。

沈殿剤の量も重要で、ヘパリン水溶液の3〜100倍が好ましい。3倍未満でも、100倍を越えても、

沈殿によるヘパリンの回収率が低下し、かつ粒子の大きさも不適当になる。

ヘパリンの回収時の遠心条件は、4,000〜10,000Gが好ましく、この条件で約97%以上のヘパリンが回収可能である。4,000G未満では、ヘパリンの回収率が低く、10,000Gを越えても回収率にほとんど変化はない。

超遠心後に上清を捨てると、ヘパリンは水と沈殿剤を含んだ微粒子のゲル状態で回収される。このゲルを乾燥させてしまうと粒子が凝集し粗い粉末になってしまうため、乾燥しないうちに速やかに有機溶剤を投入し攪拌する。この時、ヘパリンの分散が不十分であれば、超音波洗浄器中などで超音波の照射を行いながら攪拌する方法をとれば、ヘパリンを凝集せずに有効に分散させることができる。

ここで使用する有機溶剤とは、前述した非水溶性高分子が溶解可能なものなら特に限定はしないが、例えばテトラヒドロフラン、ジメチルアセトアミド、ジメチルスルフォキシド、アセトン、メ

チルエチルケトンなど、汎用の有機溶剤が使用可能である。

このようにして得られた溶液は、適宜カテーテルなどに塗布し乾燥することによって、そのカテーテル表面に抗血栓性を簡単に付与することができ、また、キャスト法によってフィルム状、チューブ状等の抗血栓性成形物を得ることができる。

溶液中の非水溶性高分子及びヘパリンの濃度は、目的に応じて選択することが可能である。基本的には、第一に、添加するヘパリン量は主として初期のヘパリン徐放速度を支配すると共に、表面の単位面積当りのヘパリン密度を規定することによって抗血栓性のレベル(程度)を支配する。また、第二に、塗布層の厚みは基本的にはヘパリンの徐放期間を支配する。

更に、マトリックスの非水溶性高分子の種類によっても異なるが、塗布層の厚みにはヘパリンの徐放に必要な最低限の厚みが存在する。ヘパリン量や非水溶性高分子の種類によって異なるが、およそその最低限の厚みは10〜50 μ mである。こ

の最低限の厚みが必要な理由は明確ではないが、以下のようなことが考えられる。ヘパリン徐放の機構としては、塩布ポリマー中に血液中の水分が拡散して浸入し、ポリマーを膨潤させ、ポリマーの内のヘパリン微粒子を溶解させてチューブ外に拡散させる機構を推定している。この場合、基材ポリマー近傍では、塩布ポリマーが基材に接着しているため、塩布ポリマーの膨潤が阻害されると考えられる。従って、ヘパリンの徐放を持続させるためには、塩布ポリマーの厚みが、その膨潤を阻害されない程度に厚くなくてはならないと考えられる。

本発明における抗血栓性材料は、使用に先だって滅菌の必要があるが、これには汎用されているエチレンオキサイド・ガス滅菌が適用可能である。その滅菌条件は特に限定しないが、ヘパリンの活性を可能な限り保持するためにできる限り低い温度で滅菌することが好ましく、通常は、60℃以下で実施することが好ましい。

本発明における、抗血栓性材料はヘパリンとそ

うにして、乾燥固形分中に占めるヘパリン量が10wt%で、固形分濃度(樹脂及びヘパリンの合計)が10wt%である溶液を調製した。

この溶液を、塩化ビニル樹脂(住友ベークライト製、G-540R)のシート(厚み200 μ m)に、0.2mmのスペーサーを用いて塩布し、50℃で5時間減圧乾燥した。得られた塩布シートを50 cm^2 の面積分用意し、これを50mlの磷酸緩衝溶液に浸漬し、37℃でインキュベートしながら、溶出してくるヘパリンの量をトルイジンブルーを用いる吸光度法(吉沢啓作ら、「ヘパリン」(講談社サイエンティフィク、1981);Wollin,A. et al.,Throm.Res., vol.2, 377(1973))にて測定した。

そのヘパリン徐放速度の経時変化は第1図に示した通りで、本発明における材料は、極めて簡単な構造にも関わらず、比較的長期間に渡って10 μ g/ cm^2 min以上の速度でヘパリンを徐放することが分かる。また、処方方を考えることによって更に長期の徐放も可能である。また、本方法で作製した塩布シートの表面及び断面を走査型電子顕微

れを分散させるマトリックスポリマーのみからなり、余分な成分は全く含有していない。このような単純な構造であっても、従来ほとんど不可能と考えられていた有効量のヘパリンの徐放を約1週間以上にわたって持続することを可能にしたものである。しかも、その製造方法から容易に推定できるように、比較的簡単に安価に製品を提供できるという利点を有している。

以下実施例によって本発明の効果を説明する。

実施例1

粉末状のヘパリン(和光純薬工業御製、試薬特級ヘパリンナトリウム)500mgを純水1.5mlに溶解し、100rpmの速度で攪拌している50mlのアセトン中に約1分かけて注ぎ、ヘパリンを再沈殿させた。これを、超遠心機にて6000Gで30分遠心してヘパリンを沈殿させた。上清を捨て、これにテトラヒドロフランを45g添加し、120rpmで10分間攪拌し、ヘパリン分散液を調製した。次いでこの分散液に、軟質塩化ビニル樹脂(住友ベークライト製、1170G-50)4.5gを溶解させた。このよ

うにして、乾燥固形分中に占めるヘパリン量が10wt%で、固形分濃度(樹脂及びヘパリンの合計)が10wt%である溶液を調製した。

実施例2

実施例1と基本的には同様にして、固形分濃度10wt%、固形分(サーメディックス社製、ポリウレタン(テコフレックス80A)、及びヘパリン)中に占めるヘパリン濃度20wt%のヘパリン分散溶液を調製した。これを、塩化ビニル樹脂製チューブ(外径5.0mm、内径3.5mm、長さ250mm、両端を各々45度の角度でカットしたもの)の内側、及び両端から各々6cmまでの外側に塩布後、7時間減圧乾燥した。

このようにして得られたチューブ、及び本発明における抗血栓性材料を塩布していない塩化ビニル樹脂製チューブを、各々エチレンオキサイドガスにて50℃で5時間滅菌した。

これらのチューブを用いて、以下の抗血栓性動物実験を実施した。

ハロセン麻酔下に雑種成犬(雄性20kg)の両頸

静脈を露出し、左上から右下、及び右上から左下の頸静脈に各々のチューブを一本ずつ挿入して固定した。血流計にて血液の流速を監視しながら、5時間の血液バイパス試験を実施した。血液は、いずれのチューブも試験期間中約40ml/minを維持し、ほとんど変化はなかった。5時間のバイパス試験の後、いずれのチューブも上流側のチューブの先端から更に2cm程度上流側の血管を切断し、下流側はチューブを静かに抜き去り、チューブと上流側血管とを一体のまま取り出した。生理的食塩水にて静かにチューブの内腔をリンスした後、血管は血流方向に縦に切開し、チューブの先端と血管壁との間、及びチューブ全体の様子を観察した。更に、チューブの上流先端部、中央部、下流先端部を各々約3cm程度切断し、2%グルタルアルデヒド(和光純薬製、電顕用)にて24時間固定し、走査型電子顕微鏡にてチューブの内腔面を観察した。それらの結果を第1表に示す。

第1表 抗血栓性動物実験結果

| 項目 | 本発明によるチューブ | 塩化ビニルチューブ |
|--------------|--|--|
| 抜去直後の目視による観察 | 1)チューブの接触していた血管内皮部分は、白っぽく特に血栓はなかった。 2)チューブは全域とも、特に、血栓はみられず、チューブは完全に開存していた | 1)血管とチューブの先端との間から形成されたと考えられる微小血栓が流入部に1cmほど形成されていた。 2)流入部から10cm程度の領域は、薄い赤色血栓が形成。 3)中央部、下流部は数カ所、赤色血栓が見られた。 |
| 固定後の目視観察 | 1)上流側には、薄い白色の血液成分の付着を見た。 2)白色の血液成分の付着は中央部から下流部にかけて次第に少なくなっている傾向があり、下流部はほとんど付着物がみられなかった。 | 1)上流部は赤褐色の血栓のために、チューブは完全に不透明化していた。 2)中流部から下流部にかけては、白色の血液成分の付着がみられ、ほとんどチューブは不透明であった。 |
| | | |
| | 1)全体的に、血小板の粘着が少々見られ | 1)流入部にはフィブリンと血小板粘着、 |

| | | |
|---------|---|---|
| 電顕による観察 | たがフィブリン生成は見られなかった。 2)血小板の粘着数は流入部がやや多く、中流部から下流部にかけては、非常に少なく、フィブリンや赤血球の付着は全く見られなかった。 | さらに赤血球を巻き込んだ赤色血栓がみられた。 2)中央部から下流部にかけては、ほとんど全域に血小板とフィブリンの付着が見られ、あちこちに赤血球の付着がみられた。 |
|---------|---|---|

である。

特許出願人 住友ベークライト株式会社

(発明の効果)

このように、本発明における抗血栓性材料は、血小板等の活性^化機能がヒトよりもかなり高いといわれるイヌの実験に於いても、かなり優れた抗血栓性を有していることが分かった。しかも、その製造方法は、従来のものと比較して極めて簡単でかつ再現性に富み、安価に提供できるという特長を有している。

4. 図面の簡単な説明

第1図は本発明による抗血栓性材料を塗布したシートのヘパリン徐放速度の経時変化を示した図

第 1 図

